

DOI: 10.7251/VETJ1502014G

УДК 637.3: 579.86

Голић Б.¹, Мијачевић З.², Булајић С.², Велебит Б.³, Недић Н. Д.¹*Оригинални рад*

НАЛАЗ КОАГУЛАЗА ПОЗИТИВНИХ СТАФИЛОКОКА У ВЛАШИЋКОМ СИРУ

Кратак садржај

Влашићки сир припада групи сирева произведених од термички необрађеног млијека, који, због начина производње, носи ризик од присуства ентеротоксогених коагулаза позитивних стафилокока.

Испитивањем је обухваћено 50 узорака влашићког сира, поријеклом из производње и промета. Циљ испитивања је утврђивање броја коагулаза позитивних стафилокока и присуства ентеротоксина стафилокока у влашићком сиру.

Присуство коагулаза позитивних стафилокока утврђено је у 76% сирева, а од испитиваних изолата стафилокока, ентеротоксин стафилокока утврђен је у 39,47% случајева.

Кључне ријечи: *коагулаза позитивне стафилококе, влашићки сир, ентеротоксин стафилокока.*

- 1 Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бранка Радичевића 18, 78000 Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина
Public Institution Veterinary Institute of the Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan“, Branka Radicevica 18, 78000 Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina
 - 2 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Булевар ослобођења 18, 11000 Београд, Република Србија
Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Belgrade, Republic of Serbia
 - 3 Институт за хигијену и технологију меса, Каћанског 13, 11000 Београд, Република Србија
Institute of Meat Hygiene and Technology, Kacanskog 13, 11000 Belgrade, Republic of Serbia
- Е-пошта коресподентног аутора / E-mail of the Corresponding Author:
bojan.golic@virsrb.com

Golic B., Mijacevic Z.², Bulajic S.², Velebit B.³, Nedic N. D.¹

Original paper

DETECTION OF COAGULASE-POSITIVE STAPHYLOCOCCI IN VLASIC CHEESE

Abstract

Vlasic cheese belongs to the group of cheeses produced from uncooked milk, which, because of the mode of production, carries the risk of the presence of enterotoxigenic coagulase positive staphylococci.

The study included 50 samples vlasic cheese, originally from production and trade. The aim of the test is to determine the number of coagulase-positive staphylococci and presence of staphylococcal enterotoxin in vlasic cheese.

The presence of coagulase-positive staphylococci it has been found in 76% of cheese, and in these cheeses, staphylococcal enterotoxin is determined in the 39.47% of the cases, respectively in 30% of the total number of cheeses covered by examination.

Key words: *coagulase-positive staphylococci, Vlasic cheese, staphylococcal enterotoxin*

УВОД / INTRODUCTION

Влашићки сир припада групи сирева произведених од термички необрађеног млијека, који, због начина производње, носи ризик од присуства ентеротоксогених коагулаза позитивних стафилокока. Велики број манипулација сиром током процеса производње и промета, температура на којој се производи и складишти, вријеме складиштења, као и особине сира (концентрација NaCl, pH и a_w) су фактори који погодују расту стафилокока и продукцији ентеротоксина у сиру. У односу на ме-

ханизам коагулације припада групи сирева са зрењем који се добијају сиришном коагулацијом, односно групи сиришнокоагулишућих сирева. Производња влашићког сира одвија се у неколико фаза (коагулација, обрада груша, пресовање, односно формирање груде, сољење груде и зрење сира у салмури), на температурама од 22 до 30°C, при чему људски фактор и услови производње имају значајну улогу у развоју стафилокока и продукцији ентеротоксина у сиру.



Слика 1. Влашићки сир

Стафилококе су убиквитарни организми, који не могу да се елиминису из окружења (Bergdoll и Wong, 2006). Најмање 30–50% особа носе ове микроорганлизме у носним ходницима, грлу или на својим рукама. Сваки пут када људи припремају храну, постоји могућност да ће бити контаминирана стафилококама. Нису све од њих ентеротоксин продукујуће стафилококе, али 30–50% може бити.

Стафилококно тровање храном је узроковано ентеротоксином, којег углавном продукују сојеви *Staphylococcus aureus*, који расту у храни и формирају ентеротоксине као производе њиховог метаболизма (Lund и сар., 2000).

Staphylococcus aureus може доспјети у млијеко директним излучивањем

из вимена са субклиничким стафилококним маститисом или контаминацијом из окружења приликом руковања и прераде сировог млијека (Peles и сар., 2007). Паст *Staphylococcus aureus* у храни представља потенцијалну опасност по јавно здравље, јер многи сојеви *Staphylococcus aureus* производе ентеротоксине, који су узрок стафилококног тровања храном.

Чини се да су људи најважнији извор стафилококне контаминације прехранбених производа. Иако су људи обично главни извор контаминације хране код тровања храном, опрема и околне површине такође могу бити извори контаминације са ентеротоксогеним сојевима *Staphylococcus aureus* (Hobbs, 1987; Concon, 1988; Miller и сар., 1998). Тровање људи је узроковано конзумирањем хране која садржи ентеротоксин. Налаз ентеротоксина у

храни је последица неадекватне производње хране у којој је стафилококама омогућено да се размножавају, обично јер се ова храна не чува довољно топла (60°C или више) или довољно хладна (7,2°C или ниже).

Млијеко и млијечни производи су намирнице које су често довођене у везу са тровањем храном ентеротоксинама стафилокока (*Delbes* и сар., 2006). Када се ентеротоксигени сојеви *Staphylococcus aureus* умноже преко 10^5 cfu/ml, они произведу довољну количину ентеротоксина који изазивају алиментарно обољење. У производима у којима се докаже број стафилокока преко 10^5 cfu/ml или g, обавезно се ради скрининг на ентеротоксин стафилокока (SEs). Уколико се открију SEs, производи се морају уништити, опозвати или повући са тржишта. Међутим, SEs нису увијек утврђени у финалном производу, иако популација *Staphylococcus aureus* достиже вриједност преко 10^5 cfu/g сира, јер сви сојеви стафилокока нису ентеротоксични (*Delbes* и сар., 2006; *Aoyama* и сар., 2008).

Уколико се у сиру, млијеку у праху и сурутци у праху утврде вриједности коагулаза позитивних стафилокока $\geq 10^5$ cfu/g, у овим узорцима обавезно је испитивање на присуство ентеротоксина стафилокока, према критеријуму безбједности хране Правилника о микробиолошким критеријумима за храну (Службени гласник Републике Српске 109/12). У овим производима, стављеним у промет, током рока

трајања производа, ентеротоксин стафилокока не смије бити у 25 g.

Микробиолошким испитивањем сира од сировог млијека, који се производи на традиционалан начин у индивидуалним домаћинствима, коагулазе позитивне стафилококе утврђене су у 18,10% случајева, са вриједности-ма $\geq 10^5$ cfu/g (Голић и сар., 2014).

Постоји велики број врста сирева, чији састав знатно варира (*Hui*, 2005). Сиреви се производе веома сличним фазама производње (одабирање млијека, коагулација, обрада груша, формирање груде, сољење и зрење сира), али свака врста или варијетет сира се међусобно разликује од тога да ли се користи сирово или термички обрађено млијеко, да ли се додају стартери или се сир производи дјеловањем аутохтоне микрофлоре. Посебно је значајна обрада груша током које издвајамо сурутку и, формирањем зрна груша, различите величине, директно утичемо на влажност самог производа. У осталим фазама можемо да стимулишемо раст једних – корисних микроорганизама и да инхибирамо раст непожељних микроорганизама. Различити технолошки поступци производње доводе до стварања различитих услова у сиру рН, температура, концентрација NaCl, расположивост кисеоника, који утичу на раст *Staphylococcus aureus* и производњу ентеротоксина (*Hui*, 2005; *Delbes* и сар., 2006).

Температурни опсег за раст стафилокока је 7–48°C (35–37°C оптимално) (*Miller* и сар., 1998).

Важна карактеристика *Staphylococcus aureus* је да може толерисати висок ниво соли, може да расте у средини која садржи 5–7% натријум хлорида, а неки сојеви су способни да расту у присуству 20% натријум хлорида (Bergdoll, 1989).

Распон температуре за продукцију ентеротоксина варира са медијумом, али је генерално, минимална температура 10°C, а максимална 45°C. Оптимална температура за продукцију ентеротоксина је 35–40°C (Bergdoll и Wong, 2006).

Циљ испитивања је утврђивање броја коагулаза позитивних стафилокока и присуства ентеротоксина стафилокока у влашићком сиру.

На основу циља, постављени су следећи задаци:

1. испитати узорке влашићког сира на присуство коагулаза позитивних стафилокока,
2. утврдити заступљеност ентеротоксигених сојева изолата коагулаза

позитивних стафилокока поријеклом из влашићког сира.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ / MATERIAL AND METHODS

Испитивањем је обухваћено 50 узорака влашићког сира, поријеклом из производње и промета. Узорци који потичу из производње, узети су из домаћинстава која се баве традиционалном производњом сира, лоцираних на планини Влашић. Узорци који потичу из промета, узети су у слободној продаји на тржишту Бање Луке и Градишке. Старост сирева је од 7 дана до 8 мјесеци.

Утврђивање броја коагулаза позитивних стафилокока рађено је методом *BAS EN ISO 6888-1/Amd 1:2005*.

За доказивање ентеротоксина стафилокока кориштена је европска рутинска метода ELISA тест, комерцијалног произвођача *BioControl, ELISA Kum Transia plate Staphylococcal Enterotoxin*, који детектује А, Б, Ц₁, Ц₂, Ц₃, Д и Е ентеротоксин.

РЕЗУЛТАТИ / RESULTS

Резултати испитивања влашићког сира на присуство коагулаза позитивних стафилокока приказани су у табели 1:

Табела 1. Налаз коагулаза позитивних стафилокока у влашићком сиру

Врста сира	Број узорака сира	КПС доказане		КПС нису доказане	
		n	%	n	%
Влашички сир	50	38	76	12	24

*КПС – коагулаза позитивне стафилококе

Просјечан број (log) коагулаза позитивних стафилокока у влашићком сиру приказан је у табели 2:

Табела 2. Просјечан број (log) коагулаза позитивних стафилокока у влашићком сиру

Врста сира	Статистички параметри	Број КПС (log CFU/g)
Влашићки сир	$\bar{X} \pm \delta$	3,00±0,82
	min	1,70
	max	4,54

Присуство ентеротоксогених коагулаза позитивних стафилокока у влашићком сиру приказано је у табели 3.

Табела 3. Присуство ентеротоксогених коагулаза позитивних стафилокока у влашићком сиру

Број узорак сира	Број узорак у којима су утврђене КПС	Број узорак сира у којима су доказане еКПС	% узорак сира у којима су утврђене еКПС у односу на број испитиваних узорак	% узорак у којима су утврђене еКПС у односу на број узорак у којима су утврђене КПС
50	38	15	30	39,47

*еКПС – ентеротоксогене коагулаза позитивне стафилококе

ДИСКУСИЈА / DISCUSSION

Присуство коагулаза позитивних стафилокока утврђено је у 38 узорак, односно у 76% сирева. Просјечан број (log) коагулаза позитивних стафилокока у влашићком сиру је 3,00±0,82 log CFU/g, а њихов број се кретао од 1,70 log CFU/g до 4,54 log CFU/g. Ови резултати су и очекивани, с обзиром на то да влашићки сир припада групи сирева произведених од термички необрађеног млијека, који због начина производње и особина, представља погодну средину за раст стафилокока,

и подударају се с наводима које износи *Delbes* и сар. (2006), да су млијеко и производи од млијека намирнице које су често довођене у везу са тровањем ентеротоксинима стафилокока у храни.

У 15 узорак сира утврђено је присуство ентеротоксогених стафилокока, што износи 39,47% у односу на број узорак у којима су утврђене коагулазе позитивне стафилококе (38 узорак), односно 30% од укупног броја сирева обухваћеног испитивањем. Добијени резултати у складу су с ре-

зултатима које су објавили *Bergdoll* и *Wong* (2006), да 30–50% стафилокока продукује ентеротоксин.

Налаз коагулаза позитивних стафилокока и ентеротоксогених стафилокока у сиру, у складу је с наводом који износе *Peles* и сар. (2007), да раст *Staphylococcus aureus* у храни представља потенцијалну опасност по јавно здравље, јер многи сојеви *Staphylococcus aureus* производе ентеротоксине, који су узрок стафилококог тровања храном.

У влашићком сиру утврђено је присуство коагулаза позитивних стафилокока, а имајући у виду да се производи од сировог млијека и на температурама које подржавају раст стафилокока (22–30°C), добијени резултати указују на ризик од присуства ентеротоксина у крајњем производу. Ови резултати у складу су с резултатима *Miller* и сар. (1998) и *Bergdoll* и *Wong* (2006), који су утврдили сличне температурне опсеге за раст стафилокока и продукцију ентеротоксина.

ЗАКЉУЧАК / CONCLUSION

На основу добијених резултата, изводе се следећи закључци:

- у 76% узорак влашићког сира утврђено је присуство коагулаза позитивних стафилокока,
- просјечан број коагулаза позитивних стафилокока у узорцима влашићког сира је $3,00 \pm 0,82$ log CFU/g,
- способност продукције ентеро-

токсина утврђена је код 39,47% изолата коагулаза позитивних стафилокока поријеклом из влашићког сира,

- услови производње влашићког сира погодују расту коагулаза позитивних стафилокока и продукцији ентеротоксина.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Aoyama, K., Takahashi, C., Yamauchi, Y., Sakai, F., Igarashi, H., Yanahira, S., Konishi, H. (2008): *Examination of Staphylococcus aureus survival and growth during cheese-making process*. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 49: 116–123.
2. BAS EN ISO 6888-1/Amd 1: (2005): *Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонтална метода за бројање коагулаза позитивних стафилокока Staphylococcus aureus и друге врсте* – Део 1: Техника коришћења Baird-Parker агар-медија – Амандман 1: Укључивање прецизности података.
3. Bergdoll M. S. and Wong A. C. L. (2006): *Staphylococcal intoxications*. In Foodborne Infections and Intoxications, ed. H. P. Remann and D. O. Cliver, p.p. 531., Elsevier.
4. Bergdoll, M. S. (1989): *Staphylococcus aureus*. In Foodborne Bacterial Pathogens, ed. M. P. Doyle, pp. 463–523. Marcel Dekker, New York.
5. Concon, J. M. (1988): *Food toxicology*. Parts A and B. Marcel Dekker, New York.

6. Голић Б., Недић Д., Пећанац Б., Дојчиновић С., Стојиљковић М, Недић С. (2014): *Квалитет бијелог овчијег сира са Старе планине*. Ветеринарски журнал Републике Српске XIV: 224–233.
7. Delbes, C., Alomar, J., Chougui, N., Martin, J. F., Montel, M. C. (2006): *Staphylococcus aureus growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cow's raw milk*. Journal of Food Protection, 69: 2161–2167 p.
8. Hobbs, G. (1987): *Microbiology of fish*. In Essay in Agricultural and Food Microbiology, eds. J. R. Norris and G. L. Pettipher, pp. 173-187. John Wiley, Chichester.
9. Hui, Y. H. (2005): *Handbook of food science, technology and engineering*, Volume 4. CRC press, 3632 p.
10. Lund, B. M., Baird-Parker, T. C., Gould, G. W. (2000): *The Microbiological Safety And Quality of Food*, Volume 1. Aspen Publishers, 1317-1335 p.
11. Miller, I., Gray D., and Kay, H. (1998): *Bacterial toxins found in foods*. In natural Toxicants in Food, ed. D. H. Watson, pp. 105-146. CRS Press, Boca Raton, FL.
12. Peles, F., Wagner, M., Varga, L., Hein, I., Rieck, P., Gutser, K., Keresztúri, P., Kardos, G., Turcsányi, I., Béri, B., Szabó, A. (2007): *Characterization of Staphylococcus aureus strains isolated from bovine milk in Hungary*. International Journal of Food Microbiology 118: 186–193 p.
13. Правилник о микробиолошким критеријумима за храну (Службени гласник Републике Српске 109/12)

